

ODRŽAVANJE I POBOLJŠANJE AUTOSTERILNIH OPRAŠIVAČA ŠEĆERNE REPE METODOM KULTURE TKIVA I REKURENTNOM SELEKCIJOM

Mezei Snežana, Kovačev Lazar, Čačić Nikola,
Nagl Nevena, Stojaković Željka

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Izvod: U *in vitro* uslovima moguće je dugi niz godina sačuvati genotipove u neizmenjenom stanju. Ova metoda kod autosterilnih genotipova omogućuje primenu rekurentne selekcije u identifikaciji genotipova sa boljim kombinacionim sposobnostima od proseka populacije. Rekombinacijom odabranih superiornih genotipova dobijena je nova populacija sa poboljšanim kombinacionim sposobnostima. Monogermna hibridna sorta Lara nastala je ukrštanjem monogermne muško sterilne familije uske genetičke osnove, dobrih kombinacionih sposobnosti, tolerantna na cercosporu i sa Holly genom otpornosti prema rizomaniji. Oprašivač je diploidna multigermna populacija tolerantna prema cercospori i poseduje Rizer gene tolerantnosti prema rizomaniji. U radu su korišćeni fenotipski superiorni genotipovi oprašivača. Novostvorena homogena klonaska populacija čuvana je u banci genotipova. Visok procenat stope umnažanja dobijen je stimulacijom aksilarnih pupoljaka iz vegetativnog tkiva cvasti. Na bazi proizvodnih karakteristika hibrida superiorni genotipovi oprašivača su razmnoženi vegetativno i od njih je stvorena poboljšana populacija oprašivača Lare.

Cljučne reči: Šećerna repa, *in vitro*, sorta Lara, diploidni multigermni oprašivač.

Uvod

Metodom čuvanja u *in vitro* uslovima moguće je dugi niz godina održati genotipove šećerne repe u neizmenjenom stanju. Da bi se poboljšale posebne kombinirajuće sposobnosti populacije polinatora, u toku oplemenjivanja koristi se rekurentna (povratna) selekcija. Genotipovi autosterilnih polinatora mogu se očuvati u neizmenjenom stanju u banci genotipova za vreme trajanja rekurentne selekcije i u odgovarajućem momentu umnožiti mikropropagacijom u dovoljnom broju primeraka (Mezei i sar., 2000). Najvažniji cilj oplemenjivača šećerne repe u ovom momentu je stvaranje hibrida dobrih proizvodnih svojstava, otpornih prema dominantnim bolestima. Hibridna sorta Lara se odlikuje dvostrukom otpornošću prema rizomaniji i nizom drugih superiornih karakteristika (Kovačev i sar., 2002). Cilj rada bio je da se iz populacije oprašivača odaberu superiorna potomstva čuvana u *in vitro* uslovima i tako formira poboljšana populacija oprašivača.

Materijal i metod rada

Monogermna hibridna sorta Lara nastala je ukrštanjem, monogermne muško sterilne familije uske genetičke osnove, dobrih kombinacionih sposobnosti, tolerantna na cercosporu i sa Holly genom otpornosti prema rizomaniji. Opra-

šivač je diploidna multigermna populacija koja se odlikuje tolerantnošću prema cercospori, a poseduje Rizor gene otpornosti prema rizomaniji (Kovačev i sar., 2003). Diploidna multigermna populacija MTRB dobijena je međunarodnom razmenom tokom 1990/91. godine. Originalna populacija je vrlo heterogena kako po proizvodnim karakteristikama, tako i po otpornosti prema Rizomaniji i tolerantnosti prema cercospori. Na populaciji je urađeno nekoliko ciklusa individualne selekcije i rekurentne selekcije na fenotip u cilju suženja genetičke osnove i povećanja adaptabilnosti na postojeće ekološke uslove. Na ovaj način poboljšana populacija MTRB koristila se u programu ispitivanja opštih i specifičnih kombinacionih sposobnosti. Iz ovog programa nastala je monogermna hibridna sorta Lara. U toku ispitivanja u 2003. i 2004. godini u radu su korišćene hibridne kombinacije gde su se kao oprašivači koristili superiorni genotipovi iz autosterilne diploidne populacije MTRB. Hibridne kombinacije su upoređivane sa izvornom hibridnom sortom Lara.

Nakon sterilizacije segmenata cvasti sa izabranih genotipova oprašivača, stimulisan je rast aksilarnih pupoljaka na MS (Murashige i Skoog, 1962) hranljivoj podlozi obogaćenj benzil adeninom. Na bazi proizvodnih karakteristika hibrida, superiorni genotipovi oprašivača su razmnoženi vegetativno i od njih je stvorena homogena klonska populacija koja je čuvana u toku 2003, 2004. i 2005. godine u banci genotipova.

Biljke su dvomesečno subkultivirane na podlogu za mikropropagaciju i gajene u uslovima dugog dana na $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Nakon ožiljavanja, aklimatizacija izabranih genotipova odvijala se u staklari. Fototermalna indukcija biljaka proticala je u hladnoj komori na $+4^\circ\text{C}$.

Rezultati i diskusija

Za očuvanje genotipa u neizmenjenom stanju u ranijim istraživanjima su korišćeni eksplantati iz spavajućih pupoljaka glave korena, pri čemu je procenat sterilizacije polaznog uzorka bio veoma nizak (Mezei i sar., 2000). U ovom radu su vrhovi cvasti semenske generacije iz izolacije konoplje poslužili kao eksplantati za zasnivanje klonske populacije (Mezei i sar., 2004). Veoma visok procenat stope umnažanja dobijen je stimulacijom aksilarnih pupoljaka na vegetativnom tkivu cvasti. Za mikropropagaciju je korišćena MS podloga sa citokininima ($0,3\text{mg/l BA}$), a za ožiljavanje je korišćena podloga bez auksina. *De novo* inicijacija korenskih primordija podstaknuta je endogenim auksinima iz tkiva repe.

Rekurentna (povratna) selekcija autosterilnih genotipova šećerne repe na opšte i specifične kombinacione sposobnosti, jedino je moguća korišćenjem vegetativne multiplikacije *in vitro*. Istim načinom se čuva izvorni genotip u neizmenjenom stanju u toku procesa oplemenjivanja. Rekurentnom selekcijom mogu da se poboljšavaju kvantitativna svojstva i kombinacione sposobnosti fenotipski superiornih genotipova. Pod fenotipskom superiornošću pojedinačnih genotipova kod populacije MTRB podrazumeva se masa korena, sadržaj šećera i nešećera u korenu u prvoj godini vegetacije, a opšti izgled semenjače, vigor, otpornost prema bolestima i polinatorska sposobnost u drugoj godini vegetacije.

Prinos korena

Jedna od najvažnijih komponenti prinosa šećera sa jedinice površine, kao finalnog proizvoda i najvažnijeg svojstva zbog kojeg se i gaji šećerna repa, je prinos korena. Ovo svojstvo, kako za proizvođače tako i za prerađivače, predsta-

vlja jedan od kriterijuma vrednovanja određenog genotipa. Dosadašnjim istraživanjima (Kovačev i sar., 1996) ustanovljeno je da je relativno najlakši put povećanja prinosa šećera preko prinosa korena, te se ovom svojstvu kako u oplemenjivanju tako i u proizvodnji, poklanja značajna pažnja.

U obe godine istraživanja ustanovljene su visoko značajne i značajne razlike u prinosu korena pojedinih hibrida u odnosu na izvornu hibridnu sortu Lara (tab.1).

Ovo nam ukazuje da je populacija oparašivača u dovoljnoj meri heterogena, kako u kvantitativnim svojstvima tako i po specifičnim kombinacionim sposobnostima, što je u ovom momentu mnogo značajnije.

Samo genotipovi oparašivača, za koje je u hibridnim kombinacijama utvrđeno da u proseku za dve godine istraživanja imaju visoko značajno viši prinos korena (tab.1), biće metodom kulture tkiva umnoženi i korišteni direktno kao poboljšani oparašivač sorte Lara, a takođe i kao početni materijal za novu poboljšanu populaciju.

Sadržaj šećera

Ako je prinos korena jedna od najvažnijih komponenti prinosa šećera, tada je sadržaj šećera i nešećera glavna komponenta tehnološkog kvaliteta šećerne repe.

Tab. 1. Uticaj fenotipski superiornih genotipova populacije MTRB na kvantitativna svojstva eksperimentalnih hibrida

Tab. 1. Effect of phenotypically superior genotypes from the MTRB population on quantitative traits of experimental hybrids

Hibridi Hybrids	Prinos korena (t/ha) Root yield (t/ha)			Sadržaj šećera (%) Sugar content (%)			Prinos kristalnog šećera (t/ha) White sugar yield (t/ha)		
	2003	2004	Prosek Mean	2003	2004	Prosek Mean	2003	2004	Prosek Mean
1.cms x mtrb 3505	51.40	32.08	41.74	15.33	13.98	14.66	6.80	3.85	5.33
2.cms x mtrb 3506	57.33	36.08	46.71	15.80	14.26	15.03**	7.89	4.51	6.20
3.cms x mtrb 3507	54.87	33.48	44.18	15.24	14.39	14.81	7.15	4.22	5.68
4.cms x mtrb 3514	69.16	35.20	52.18**	15.24	14.34	14.79	9.10	4.42	6.76**
5.cms x mtrb 3517	61.84	33.15	47.49	15.14	13.87	14.50	8.01	3.98	6.00
6.cms x mtrb 3518	63.77	34.51	49.14*	15.28	14.61	14.94**	8.37	4.48	6.42**
7.cms x mtrb 3523	70.56	37.81	54.18**	15.48	14.40	14.94**	9.41	4.71	7.06**
8.cms x mtrb 3526	71.38	38.11	54.74**	14.96	14.24	14.60	9.03	4.78	6.90**
9.cms x mtrb 3529	71.06	31.60	51.33**	15.71	14.55	15.13**	9.62	4.02	6.82**
10.cms x mtrb 3531	66.62	31.36	48.99*	16.04	14.38	15.21**	9.29	3.94	6.61**
Prosek - Mean	6380	34.34	49.07	15.42	14.30	14.86	8.47	4.29	6.38
Lara	59.07	33.95	46.51	15.35	13.73	14.54	7.87	3.96	5.92
LSD	0.05	1.62	0.69	2.30	0.19	0.08	0.27	0.24	0.34
	0.01	2.16	0.92	3.05	0.25	0.11	.036	0.33	0.44
CV%	3.75			1.45			4.32		

Kako pojedinačno u ispitivanim godinama tako i u proseku za dve godine istraživanja, ustanovljene su značajne i visokoznačajne razlike kod eksperimentalnih hibrida, gde su se kao oparašivači koristili pojedinačni genotipovi iz autosterilne populacije MTRB.

Ova činjenica ukazuje da se populacija razlikovala u kombinacionim sposobnostima za sadržaj šećera (Tab.1). Nije postojala pravilnost da hibridi sa višim prinosom korena imaju značajno niži sadržaj šećera, a takodje hibridi sa višim sadržajem šećera nisu imali značajno niži prinos korena. Rezultati ovih istraživanja govore da specifične kombinacione sposobnosti za prinos korena i sadržaj šećera nisu međusobno povezane (Tab.1), te se u hibridnim kombinacijama vrlo uspješno mogu kombinovati visok prinos korena i visok sadržaj šećera, što je u saglasnosti sa istraživanjima (Martens, 1990.; Sarić, 1981).

Prinos šećera

Glavno svojstvo zbog kojeg se gaji šećerna repa je prinos šećera sa jedinice površine. Prinos šećera predstavlja matematički izvedeno svojstvo i proizvod je prinosa korena i sadržaja šećera i nešećera.

Tab. 2. Sadržaj nešećera (*K*, *Na* amino-*N*) u ukrštanjima sa odabranim genotipovima *MTRB* populacija

Tab. 2. Nonsugar content (K, Na, amino-N) of crosses with select genotypes from the MTRB population

Hibridi <i>Hybrids</i>		Sadržaj K (mmol/100°S) <i>K content (mmol/100°S)</i>			Sadržaj Na (mmol/100°S) <i>Na content (mmol/100°S)</i>			Sadržaj amino-N (mmol/100°S) <i>Amino-N content (mmol/100°S)</i>		
		2003	2004	Prosek Mean	2003	2004	Prosek Mean	2003	2004	Prosek Mean
1.cms x mtrb 3505		24.35	23.88	24.11	3.47	4.27**	3.87	24.03	26.71**	25.37**
2.cms x mtrb 3506		22.86	21.09**	21.97**	2.85	4.24**	3.54	25.07	17.83**	21.45**
3.cms x mtrb 3507		24.01	18.25**	21.13**	3.82	4.59	4.20	33.06	26.02**	29.54
4.cms x mtrb 3514		24.21	20.98**	22.60*	2.54*	4.18**	3.36	27.66	19.50**	23.58**
5.cms x mtrb 3517		26.33	21.92**	24.12	3.45	4.57	4.01	23.94	24.06**	24.00**
6.cms x mtrb 3518		26.18	17.39**	21.78**	3.86	3.21**	3.53	20.81**	20.74**	20.78**
7.cms x mtrb 3523		24.04	21.71**	22.88	3.22	4.27**	3.74	27.07	26.98**	27.03
8.cms x mtrb 3526		27.51	18.51**	23.01	3.74	4.08**	3.91	30.18	22.99**	26.59
9.cms x mtrb 3529		25.81	19.49**	22.65*	2.80	3.84**	3.32*	24.03	26.82**	25.43**
10.cms x mtrb 3531		23.65	20.97**	22.31	2.31	4.37**	3.34	25.25	21.24**	23.24**
Prosek - Mean		24.90	20.42	22.66	3.21	4.16	3.69	26.11	23.29	24.70
Lara		23.43	24.69	24.06	2.83	4.74	3.67	24.29	29.44	26.87
		A	B	AB	A	B	AB	A	B	AB
LSD	0.05	0.87	0.37	1.24	0.25	0.11	0.35	0.87	0.37	1.22
	0.01	1.16	0.49	1.64	0.33	0.14	0.47	1.15	0.49	1.62
CV(%)		4.31			7.55			3.91		

Statistički visoko značajne razlike u prinosu šećera kod eksperimentalnih hibrida u odnosu na izvornu sortu, ukazuju da se genotipovi autosterilne popu-

lacije oparašivača, značajno razlikuju u specifičnim kombinacionim sposobnostima (Tab.1).

Značajne razlike u svim ispitivanim kvantitativnim svojstvima (prinos korena, sadržaj šećera i prinos šećera kao i sadržaj nešećera) F1 hibrida gde su se kao oparašivači koristili različiti genotipovi populacije MTRB (Tab. 1 i 2), ukazuju da se populacija razlikovala u kombinacionim sposobnostima.

Na bazi proizvodnih karakteristika hibrida samo superiorni genotipovi oparašivača, kako po kvantitativnim svojstvima tako i po kombinacionim sposobnostima, čuvani u kulturi tkiva, odabrani su za novu poboljšanu populaciju oparašivača. Visoko značajno viši prinos šećera sa jedinice površine, ostvarile su hibridne kombinacije koje su u proseku za dve godine istraživanja bar u jednom značajnom svojstvu, prinosu korena ili sadržaju šećera, prevazilazile izvornu hibridnu sortu Lara (Tab.1).

Zaključak

Na osnovu dvogodišnjih rezultata ispitivanja mogu se izvesti sledeći zaključci:

- godina je vrlo značajno uticala na sva ispitivana svojstva kako eksperimentalnih hibrida tako i ishodne hibridne sorte Lara.

- u proseku za dve godine ispitivanja ustanovljene su značajne i visoko značajne pozitivne razlike kod svih ispitivanih svojstava između eksperimentalnih hibrida i hibridne sorte Lara.

- rezultati ispitivanja ukazuju da je autosterilna diploidna populacija koja se koristi kao oparašivač kod hibridne sorte Lara u dovoljnoj meri heterogena i da se rekurentnom selekcijom uz korišćenje kulture tkiva može značajno poboljšati.

Literatura

- Kovačev, L., Čačić, N., Mezei, Snežana, 1996: Oplemenjivanje šećerne repe, stanje i perspektive. "Zbornik radova", Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, sv. 25, 93-98.
- Kovačev, L., Mezei, Snežana, Čačić, N., Sklenar, P., Nagl, Nevena, 2003: Rizomanija - novija saznanja i proizvodna svojstva NS hibridnih sorti šećerne repe tolerantnih prema ovom obolenju. "Zbornik radova", Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, sv.38, 281-290.
- Kovačev, L., Čačić, N., Mezei, Snežana, Sklenar, P., Nagl, Nevena, 2002: Quantitative characteristics of sugarbeet hybrid tolerant to rhizomania. Scientific Session of Jubilee Agriculture Science, Sadovo. 122-126.
- Mezei, Snežana, Čačić, N., Nagl, Nevena, Kovačev, L. i Sklenar, P., 1999: Mogućnost primene mikropogacije lateralnih pupoljaka glave korena šećerne repe u rekurentnoj selekciji. II Kongres genetičara Srbije, Soko banja, 10-13. novembra, pp.42.
- Mezei, Snežana, Čačić, N., Kovačev, L., Sklenar, P., Nagl, Nevena, 2000: Mogućnost poboljšanja populacije oparašivača korišćenjem *in vitro* metoda. Selekcija i semenarstvo, VII, 1-2, 61-65.
- Mezei, Snežana, Kovačev, L., Čačić, N., 2002: Kultura tkiva šećerne repe (*Beta vulgaris* L.) XXXVI, Seminar agronoma, "Zbornik referata", Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad. 51-57.
- Mezei, Snežana, Kovačev, L., Čačić, N., Nagl, Nevena, 2004: Primena kulture cvasti *in vitro* u oplemenjivanju šećerne repe. III Kongres genetičara Srbije, 30. novembar - 4. decembar, Subotica.

- Mezei, Snežana, Jelaska, Sibila, Kovačev, L., 1990: Vegetative propagation of sugarbeet from floral remnants. *Journal of Sugar beet Research*, Vol. 27, No 3/4, 90-96.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15:473-497.
- Martens, M., 1990: Characteristics of Sugar Beet for growing in an economical and more competitive way in the future. 53rd IIRB Winter Congress, Bruxelles, 120-128.
- Sarić, M., 1981: Fiziologija šećerne repe. Srpska akademija nauka i umetnosti, Beograd.

MAINTENANCE AND IMPROVEMENT OF SELF-STERILE SUGAR BEET POLLINATORS USING TISSUE CULTURE AND RECURRENT SELECTION

*Mezei Snežana, Kovačev Lazar, Čačić Nikola,
Nagl Nevena, Stojaković Željka*

Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

Summary: *In vitro* preservation makes it possible to maintain genotypes in an unchanged condition for a large number of years. With self-sterile genotypes, this method enables the use of recurrent selection for identifying genotypes with better combining abilities than the population average. By recombining selected superior genotypes, it is possible to obtain a new population with improved quantitative traits and combining abilities. The objective of the present paper was to develop a new population of the pollinator cultivar Lara from the progenies of superior genotypes kept in *in vitro* conditions. The monogerm hybrid cultivar Lara was developed through crosses using a monogerm male-sterile family with a narrow genetic base characterized by good combining abilities, tolerance to *Cercospora* and the possession of the Holly gene conferring resistance to rhizomania. The pollinator is a diploid multigerm population having tolerance to *Cercospora* and Rizer genes for tolerance to rhizomania. Used in our study were phenotypically superior pollinator genotypes contained in individual plants within the population. The newly developed homogenous clonal population was kept in a gene bank. A high propagation rate was obtained by stimulating axillary buds from the vegetative tissue of the inflorescence. Based on the hybrids' production characteristics, superior pollinator genotypes were propagated vegetatively and a new population of the pollinator Lara was developed.

Key words: sugar beet, *in vitro*, cultivar Lara, diploid multigerm pollinator